



LES BIOTECHNOLOGIES DANS LA PROTECTION DE L'ENVIRONNEMENT. APPLICATIONS DANS LE DOMAINE TEXTILE♦

Michaela Dina Stanescu

*Université « Aurel Vlaicu », 77, Bd. Revolutiei, Arad, Roumanie
Tel. 0040257283010, E-mail: stanescu@uav.ro*

Abstract: The applications of enzymes in textile industry are presented. The enzymes suitable for textile processes (oxydo-reductases and hydrolyses) as well as the type of enzymatic treatments applied on textile materials have been described. Some results obtained by using biotechnology in the textile field are presented. The development of textile biotechnology in the last decades due to development of knowledge in the field is pointed out. The advantages and disadvantages of using enzymes in different steps of textile materials processing are discussed. The effects of the textile biotechnology on the environment are underlined. As a general conclusion, the biotechnology may assure new ecological procedures in the textile materials processing.

Keywords: *oxydo-reductases, hydrolases, textile finishing, waste bioremediation.*

INTRODUCTION

La demande croissante de diminuer la pollution a déterminé le développement des biotechnologies dans des diverses industries pour assurer l'élimination des polluantes. L'industrie textile a bénéficié avec succès de l'utilisation des enzymes depuis

♦ Paper presented at **COFrRoCA 2006: Quatrième Colloque Franco-Roumain de Chimie Appliquée**, 28 June – 2 July, Clermont-Ferrand, France

nombreuses années pour le désencollage de coton et la composition des détergents. Le dernier temps, avec l'évolution des connaissances dans le domaine des enzymes, il y a eu un essor de l'application des biotechnologies dans ce domaine. Utilisées pour la préparation des matériaux textiles mais aussi pour l'ennoblissement de ces produits, les biotechnologies sont aujourd'hui en plein essor [1, 2].

MATERIAUX ET METHODES

Les enzymes utilisées dans le domaine textile appartiennent aux classes 1 et 3: oxydoréductases (laccases, catalases) et hydrolases (amylases, cellulases, protéases, lipases, etc.).

Les oxydoréductases

Les oxydoréductases employées sont de constitution des métalloprotéines ayant comme centre actif un métal transitionnel qui est impliqué dans le transfert des électrons. Parmi eux les plus utilisées sont les laccases et catalases.

Les laccases, appelées "oxydases bleues", due à leur couleur durant la réaction, sont des enzymes produites principalement par des champignons (fungi), mais aussi par quelques plantes supérieures et même des bactéries. L'une des plus souvent utilisée enzyme est celle produite par le champignon *Trametes versicolor* [3]. Les laccases font partie de la famille des protéines multi cuivre et utilise l'oxygène pour oxyder les divers substrats. L'oxygène est transformé en eau, par l'intermède de 4 électrons. Leur potentielle redox dépend de la source de l'enzymes et elles sont classifiées selon ce critère, en : laccases de basse valeur (500 mV vs l'électrode d'hydrogène) et celles de haute valeur (700-800 mV) [3]. L'utilisation de cette sorte d'enzymes a été déterminée par leur manque de spécificité, les laccases pouvant agir sur divers substrats, comme: phénols, phénols substitués, amines aromatiques, dérivés chlorurés, etc. [4-8]. L'analyse de la structure de la laccase de *Trametes versicolor* a indiqué les propriétés suivantes. L'enzyme a une structure monomère. La partie protéique est liée avec 7 molécules de N-acétyl-glucosamine dans 5 positions différentes.

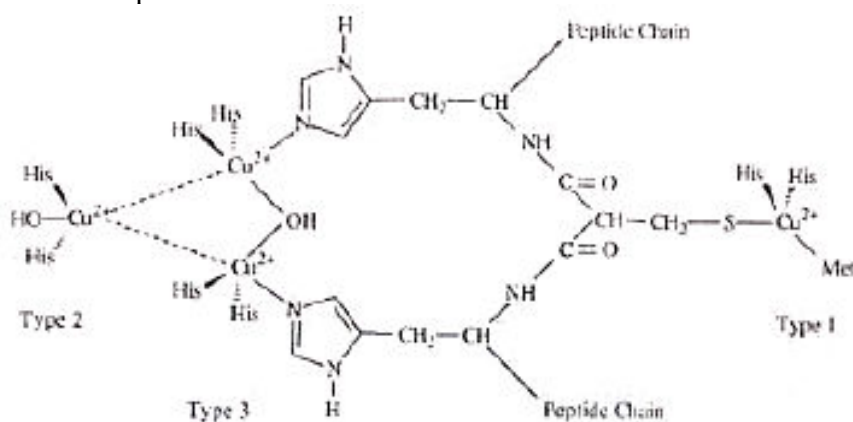


Figure 1. Structure de site actif des laccases (selon Duran et. col. [9])

Le site actif de l'enzyme est formé par quatre atomes de cuivre (Type 1, Type 2 et Type 3). Les atomes du métal (Type 2 et Type 3) sont liés à des noyaux d'histidine, entre eux et à l'oxygène (de H₂O or OH⁻). Le cuivre Type 1 est le plus proche de la surface de l'enzyme. Il est situé à 12 Å de groupe des trois autres atomes de cuivre et on peut considérer qu'il est le premier à réagir. Il a comme ligands 2 histidines et une molécule de cystéine (ou méthionine or phénylalanine). La liaison entre Cu (Type 1) et le cluster Type 2/Type 3 est faite par un tripeptide: His-Cys-His qui assure le transfert d'électrons. Cette structure se retrouve dans toutes les enzymes de la même famille.

Des molécules comme: H₂O, O₂ or des ions comme: HO⁻, F⁻ peuvent régler le transfert d'électrons [3,10]. Le spectre UV/Visible montre des absorptions à 280, 330, 610 nm. L'absorption de 610 nm est due au Cu (Type 1) [11]. Une fluorescence due aux atomes de Cu (Type 3) apparaît à 420 nm [12].

Une autre enzyme de la classe d'oxydoréductases, employée souvent dans le domaine textile, est la catalase. Cette enzyme existe chez tous les organismes aérobies. On trouve la catalase dans les peroxysomes, où les réactions d'oxydations produisent H₂O₂, puissant oxydant, toxique pour la cellule. La catalase détruit H₂O₂ au fur et à mesure de sa formation. Elle est une des enzymes les plus efficaces connues, qui présente l'une des plus élevées activités. La plupart des catalases sont composées de quatre sous-unités identiques. Chacune contient un noyau hémique comme celui de l'hémoglobine renfermant un ion de fer. Il y a aussi des catalases atypiques dont les noyaux hémiques peuvent être modifiés ou remplacés [13a].

Le fonctionnement de la catalase est basé sur le changement d'état de valence de fer. Le fer est haut spin ayant une coordinance 5-6, donc 4 avec les atomes d'azote de la porphyrine et la 5^{ème} avec l'oxygène d'une molécule de tyrosine déprotonnée à l'OH. La 6^{ème} place est vide ou occupée d'une molécule d'eau. Si le fer est Fe³⁺ ce site est vide et le peroxyde a l'accès. À la réaction participe aussi un noyau d'histidine de la chaîne protéique. Cet acide aminé peut être remplacé par une cystéine or une tyrosine avec croissance de la vitesse de réaction [14].

La dismutation de H₂O₂ est réalisée par les réactions suivantes [15]:



Au premier stade l'enzyme donne deux électrons avec la formation d'un ion Fe⁴⁺ et un radical cation porphyrinique (composé *oxo-ferryl*). Ce composé revient à l'état initial par deux procédés: il réagit avec une autre molécule de H₂O₂ (b) or, en présence d'une molécule facile à oxyder, par exemple éthanol, il oxyde celle-ci (c).



Dans la même classe, d'oxydoréductases, se trouvent aussi les peroxydases qui peuvent être utilisées en combinaison avec les laccases, ayant une activité synergétique. Elles font partie des enzymes hémiques, avec une porphyrine comme centre active contenant un fer à spin haut [13b].

Les hydrolases

Les plus utilisées enzymes pour les traitements des matériaux textiles sont les

hydrolases: amylases, cellulases, xylanases, pectinases, protéases, lipases, etc. [16]. Parmi eux les plus nombreux sont les enzymes qui hydrolysent des polysaccharides. Elles sont différenciées par le substrat et le type de liaison hydrolysée.

Les amylases hydrolysent les poly-glucoses ayant des liaisons α 1-4 (amidon, glycogène) et libèrent ainsi du maltose et d'autres composés. Elles sont présentes dans les grains d'orge germés et dans les sécrétions pancréatiques des mammifères. Elles peuvent être α -amylases et β -amylases par rapport à la modalité de fragmentation. Les β -amylases transforment l'amidon en maltose et dextrines en coupant la chaîne polyglucosique à l'extrémité non réductrice, tandis que la fragmentation est plus avancée, et au milieu de la chaîne, avec les α -amylases. Elles peuvent être monomère ou dimère en dépendance avec la source le rôle joué. La structure des amylases est complexe avec plusieurs domaines (A, B, C, N) en interaction [17]. Des quatre domaines le domaine N, ayant des acides aminés aromatiques, reconnaît le substrat et le fixe pour développer la réaction enzymatique. Le site actif contient des acides aminés dicarboxyliques (Asp, Glu), le mécanisme de la catalyse étant acido-basique [18]. La stabilité des amylases dépend aussi de la coordinance avec des ions de Ca^{2+} [19].

Les cellulases hydrolysent une liaison β 1-4 glucidique de la cellulose. Comme sources pour cellulases il y a de nombreux organismes, notamment procaryotes, fungi (champignons), plantes. D'habitude les cellulases forment des complexes multienzymatiques (cellulosome) ayant des modes d'action spécifiques sur la chaîne polymère de la cellulose. D'après ce critère les cellulases sont des endoglucanases et des cellobiohydrolases (exoglucanases) [20]. Les premières font la fragmentation de la chaîne polygluconique à l'intérieur, les dernières à l'extrémité non réductrice, la cellobiose étant le produit obtenu. Les deux sortes d'enzymes agissent en synergie pour dégrader la cellulose [21, 22]. Pour les cellulases l'ancrage de l'enzyme sur la cellulose réalise par un domaine spécial (CBD - *cellulase binding domain*) est très important, déterminant l'activité enzymatique [23]. Le mécanisme de fragmentation est pareille à celui des amylases (acido-basique).

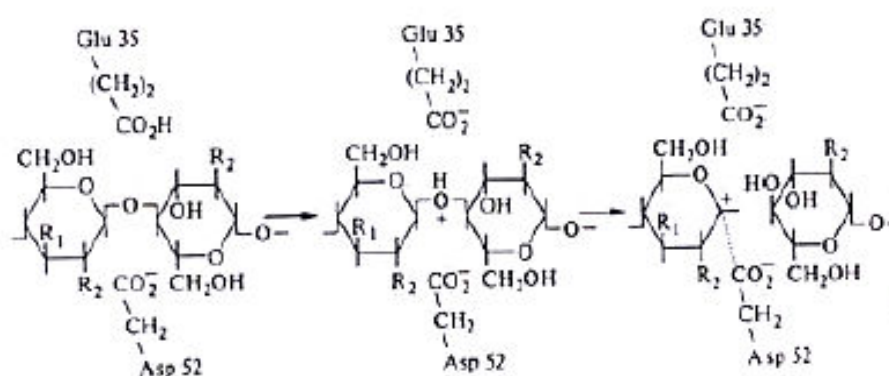


Figure 2. Hydrolyse d'un polysaccharide avec lysozyme [24]

Ce mécanisme (*via* un ion d'oxo-carbonium), proposé par Koshland [25], est rencontré chez toutes les enzymes fragmentant les polysaccharides. La transformation peut se dérouler avec préservation ou inversion de la configuration d'atome de carbone hydrolysé [26].

Les hemicellulases sont un ensemble d'enzymes différentes entre elles par la spécificité de substrat. Les plus répandues sont les xylanases [27]. Le mécanisme d'hydrolyse est aussi basé sur une réaction avec deux acides aminés dicarboxyliques (Glu₁₂₇ et Glu₂₃₆) [28].

L'hydrolyse des pectines, autres polysaccharides avec une structure très complexe [29], présentes dans le paroi des plante textile comme: lin, chanvre, etc., est faisable seulement par l'association d'enzymes hydrolytiques les polygalacturonases et les poly métylesterases. Les polygalacturonases peuvent réaliser la fragmentation des pectines après l'élimination de méthanol par les méthylesterases. Pour détruire les pectines il vaut mieux employer des pectate lyases ayant une action basée sur une réaction d'élimination [30].

D'autres enzymes de la classe d'hydrolases, utilisées dans le domaine, sont les protéases. Classifiées par la structure de site actif, ses enzymes peuvent être: serine protéases, cystéine protéases, aspartate protéases et métalloprotéases [31]. Les serine protéases sont les plus souvent utilisées pour le traitement des matériaux textiles. Elles possèdent un mécanisme catalytique nécessitant une triade d'acides aminés pour leur site actif: une sérine agissant comme nucléophile, aidée par des interactions spécifiques avec une histidine, elle-même interagissant avec un résidu d'acide aspartique. Après la formation du complexe avec le substrat, le groupement carbonyle du lien scissile est attaqué par la triade, résultant un intermédiaire acyl-enzyme avec le résidu sérine. Le fragment est libéré de l'enzyme suivant l'addition d'une molécule d'eau. Le rôle du résidu d'acide aspartique est de fournir les protons nécessaires à la libération des fragments hydrolysés et celui de polariser l'histidine [32].

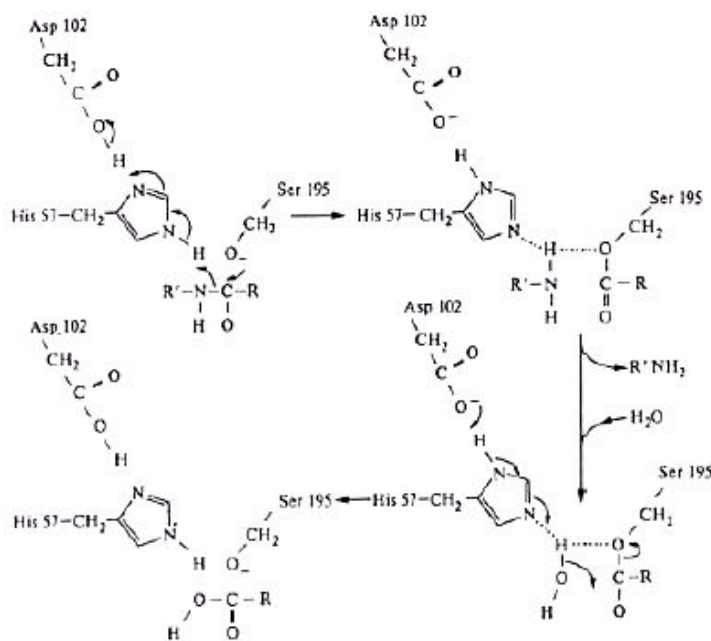


Figure 3. Hydrolyse d'une protéine avec chymotrypsine [24]

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Les enzymes décrites ont été utilisé au laboratoire or a l'état industrielle, dans des divers étapes, pour traiter et modifier les fibres durant la fabrication et l'entretien des textiles. Parmi ces applications on compte:

Le *désencollage* du *coton* est l'élimination de l'amidon utilisé pour protection des fils contre le cassage lors du tissage. Cette opération est la plus ancienne application des biotechnologies en textiles [33]. Les α -amylases provenant des sources microbiennes sont utilisées pour remplacer le HCl, produit dangereux pour l'environnement. Les avantages sont la réduction de la pollution et de la quantité de l'eau pour le procès. Le désavantage est le contenu élevé des matières organiques a cause des dextrines produites par l'hydrolyse partielle de l'amidon.

Le *rouissage* du *lin* et du *chanvre*, opération fait pour détruire la gomme qui colle les fibres de l'écorce, à la partie intérieure des tiges, peut être accompli avec des mélanges d'enzymes riches en pectinases [34]. Le procédé n'est pas polluant et aussi plus rapide que les procédés classiques, mais les enzymes sont assez chères. Les fibres de ce type peuvent être traitées avec un mélange d'enzymes (xylanases, pectinases, cellulases, protéases, laccases) pour obtenir un produit similaire au coton [35].

La *biopreparation* du *coton*, opération permettant l'élimination des composants non cellulotiques du *coton* naturel est une alternative biologique à l'opération chimique faite avec des produits chimique alcalins, comme la soude. Une nouvelle pectinase alcaline BioPrep a donné des bon résultats. Les résultats expérimentales ont démontré que l'impact de procédé sur l'environnement est réduit, les auxiliaires chimiques nécessaires (agents tensioactives, agents de coordinance) sont biodégradable et le produit obtenu a des propriétés comparable a celui obtenu par le traitement chimique [36]. La spécificité de l'enzyme assure une structure cellulotique presque intacte du *coton* en comparaison avec le traitement alcalin traditionnel. La consommation d'eau pour le rinçage est beaucoup moins importante [37]. Des résultats meilleurs ont été obtenus en traitant avec des pectinases alcalines en présence des ultrasons [38].

Les cellulases sont utilisées dans différentes opérations d'ennoblissement du *coton* pour obtenir des matériaux aux propriétés supérieures. Ainsi on peut obtenir des tissus avec un toucher, une texture et aspect meilleurs (peau de pêche) par le *bio polissage* [39]. Le *bio délavage* est aujourd'hui le principal procédé employé pour conférer au denim un aspect délavé [40], option basé sur analyse comparative de paramètres environnementaux.

L'application d'enzymes de type cellulase sur les tissus de *coton* peut changer l'*affinité tinctoriale* des fibres. Les effets des traitements à cellulases, avant ou concomitamment avec la teinture, ont été étudiés analysant les pertes de masse et les différences de couleur, par rapport à un tissu témoin non traité, mais teint de la même façon [41].

A l'aide des enzymes on peut obtenir des fibres cellulotiques nouvelles, comme le Lyocell [42].

Non seulement les fibres cellulotiques peuvent être modifiées par les enzymes mais aussi celles protéique.

Le *décreusage* de la *soja* (dissolution de séricine) peut se réaliser avec des protéases au lieu de traitement avec des solutions alcalines [43].

L'élimination des résidus cellulosiques contenus dans la laine vierge (le *carbonisage*) est réalisée par traitement avec une solution d'acide sulfurique assez concentrée. Des recherches ont été développées pour remplacer cette technologie polluante avec une eco-technologie utilisant des cellulases [44]. On n'a pas encore trouvé une solution viable au niveau industriel.

L'ennoblissement de la laine comprend des étapes où les enzymes peuvent remplacer des composés chimiques polluants. Ainsi, les protéases sont utilisées pour traitement *anti-feutrage* ou pour *blanchiment* de la laine [45]. Mais, ces traitements posent des problèmes dus au possible pénétration de la fibre par les protéases.

Une solution pour résoudre le problème est l'immobilisation des enzymes. D'ailleurs l'immobilisation répond aussi au problème de coût élevé des enzymes, permettant la récupération et l'utilisation prolongée due à une croissance de stabilité des enzymes. Des essais ont été faits de ce côté en immobilisant la protéase dans une matrice de silicates [46]. L'application des traitements avec des *protéases immobilisées* a donné quelques résultats au niveau laboratoire [47].

Les protéases peuvent aussi remplacer avec succès le NaOH dans le *finissage* du polyester avec un effet positif sur le caractère hydrophile de la fibre [48].

Les catalases sont employées avec succès, à l'échelle industrielle pour *détruire* les traces de H_2O_2 , avant la teinture [49].

Les potentialités offertes par les laccases ouvrent de nouvelles perspectives en matière de dépollution en particulier pour *bio dégrader des polluants persistants*. Dans le domaine textile les laccases sont employées surtout pour *détruire les colorants* des eaux résiduelles [50].

Des recherches sont en développement concernant l'utilisation des enzymes pour valoriser les déchets textiles [51].

Les performances des détergents d'aujourd'hui sont basées surtout sur leur contenu en enzymes (amylases, lipases, protéases, etc.).

CONCLUSIONS

Les biotechnologies ont beaucoup changé l'industrie des textiles avec l'apparition et le développement des procédés plus efficaces et sans danger pour l'environnement. Grâce aux progrès du génie génétique on a produit des enzymes modifiées et leur utilisation à améliorer les procédés de fabrication des textiles. La biotechnologie a facilité la fabrication de nouvelles fibres de qualité supérieure. Basé sur ces résultats on prévoit une essor remarquable dans le futur pour les biotechnologies dans le domaine textile et aussi dans d'autres domaines.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Puscas, E., Stanescu, M.D., Fogorasi, M., Dale, V.: *Dezvoltarea durabila prin proiectia mediului si biotehnologii textile*, Ed. Aurel Vlaicu, Arad, **2003**, pp. 250-320.

2. Stanescu, M.D.: Enzymes in textile finishing an Overview, *Proceedings of World Textile Conference "Textile Engineering at the dawn of a new millennium"*, 1-3 July **2002**, Bruges-Belgium, pp. 446-453.
3. Piontek, K., Antorini, M., Choinowski, T.: Crystal Structure of Laccase from the Fungus *Trametes versicolor* at 1.90 Å Resolution Containing a Full Complement of Coppers, *J.Biol.Chem.*, **2002**, **277**, 37663-37669.
4. Solomon, E.I., Sundaram, U.M., Machonkin, E.: Multicopper Oxidases and Oxigenases, *Chem.Rev.*, **1996**, **96**, 2563-2605.
5. Ullrich, R., Mai Huong, L., Lan Dung, N., Hofrichter: Laccase from the medicinal mushroom *Agaricus blazei*: production, purification and characterization, *Appl.Microbiol.Biotechnol.*, **2005**, **67**, 357-363.
6. Cullen, D., Kersten, P.J., Enzymology and molecularbiology of lignin degradation dans Brambl, R., Marzluf, G.A., eds., *The Mycota III Biochemistry and molecular biology*, 2nd edition, Springer Verlag, Berlin, **2004**, pp.249-278.
7. Mayer, A.M., Staples, R.C.: Laccase: new functions for an old enzyme, *Phytochemistry*, **2002**, **60**, 551-565.
8. Youn, H.-D., Hah, Y.C., Kang, S.-O.: Role de laccase in lignin degradation by white-rot fungi, *FEMS Microbiol.Lett.*, **1995**, **132**, 183-188.
9. Duran, N., Rosa, M.A., D'Annibale, Gianfreda L.: Applications of laccases and tyrosinases (phenoloxidases) immobilized on different supports: a review, *Enzyme Microb.Technol.*, **2002**, **31**, 907-931.
10. Xu, F, Berka, R.M., Wahleithner, J.A., Nelson, B.A., Shuster, J.R., Brown, S.H., Palmer, A.E., Solomon, E.I.: Site-directed mutations in fungal laccase: effect on redox potential, activity and pH profile, *Biochem. J.*, **1998**, **334**, 63-70.
11. Koroljova-Skorobogat'ko, O.V., Stepanova, E.V., Gavrilova, V.P., Morozova, P.V., Lubimova, N.V., Dzchafarova, A.N., Jaropolev, A.I., Makower, A.: Purification and characterization of the constitutive form of laccase from basidiomycete *Corious hirsutus* and effect of inducers on laccase synthesis, *Biotechnol. Appl. Biochem.*, **1998**, **28**, 47-54.
12. Wynn, R.M., Sarkar, H.K., Holwerda, R.A., Knaff, D.B.: Fluorescence associated with the type 3 copper center of laccase, *FEBS Lett.*, **1983**, **156**, 23-28.
13. Pelmont, J.: *Enzymes*, 2^{eme} édition, Presses Universitaires de Grenoble, Grenoble, **1993**, a) pp. 522-530 : b) 531-544.
14. Adachi, S., Nagano, S, Ishimori, K., Watanabe, Y., Morishima, I: Role of Proximal Ligand in Heme Proteins: Replacement of Proximal Myoglobin with Cysteine and Tyrosine by Site-Directed Mutagenesis as Models for P-450, Chloroperoxidase and Catalase, *Biochemistry*, **1993**, **32**, 241-252.
15. Mate, M.J., Sevinc, M.S., Hu, B., Bujons, J., Bravo, J., Wsitala, J., Ens, W., Loewen, P.C., Fiata, I. : Mutants that Alter the Covalent Structure of Catalase Hydroperoxidase II from *Escherichia coli*, *J. Biol. Chem.*, **1999**, **374**, 27717-27725.
16. Stanescu, M.D., Fogorasi, M.: Aplicatii ale catalizei enzimaticice in domaniul textile. Amilaze, celulaze, pectinaze, proteaze, *Lucrarile sesiunii de comunicari stiintifice Aurel Vlaicu din Arad*, 30-31 octombrie **1997**, vol VI, pp. 34-41.
17. Janacek, S., MacGregor, E.A., Svensson, B.: Characteristic differences in the primary structure allow discrimination of cyclodextrin glucanotransferases from α amylases, *Biochem. J.*, **1995**, **305**, 685-686.

18. Tonozuka, T., Yokota, T., Ichikawa, K., Mizuno, M., Kondo, S., Nishikawa, A., Kamitori, S., Sakano, Y.: Crystal structures and substrate specificities of two α amylases hydrolyzing cyclodextrines and pullulan from *Thermoactinomyces vulgaris* R-47, *Biologia, Bratislava*, **2002**, 57 (Suppl. 11), 71-76.
19. Suvd, D., Fujimoto, Z., Takase, K., Matsumura, M., Mizuno, H.: Crystal Structure of *Bacillus stearothermaophilus* α -Amylase: Possible Factors Determining the Thermostability, *J. Biochem*, **2001**, 129, 461-468.
20. Davies, G.J., Brzozowski, A.M., Dauter, M., Varrot, A., Schulein, M.: Structure et function of *Humicola insolens* family 6 cellulases: structure of endoglucanase, Cel6B at 1.6 Å resolution, *Biochem. J.*, **2000**, 348, 201-207.
21. Gilkes, N.R., Henrissat, B., Kilburn, D.G., Miller, R.C., Warren, R.A.J.: Domains in microbial β -1-4-glycanases: Sequence, conservation, function and enzyme families, *Microbiol. Rev.*, **1991**, 55, 303-315.
22. Nevalainen, H., Penttilä, M.: Molecular biology of cellulolytic fungi, dans “*The Mycota II. Genetics and Biotechnology*”, Kuck, U. ed., Springer Verlag, Berlin, **1995**, pp. 303-319.
23. Linder, M.: *Structure-function relationships in fungal cellulose binding domain*, Technical Research Centre of Finland VTT Publication 294, Espoo, **1996**.
24. Price, N.C., Stevens, L.: *Fundamentals of Enzymology*, 2nd edition, Oxford University Press, Oxford, **1989**, pp.181-252.
25. Koshland, D.E.: Stereochemistry and the mechanism of enzymatic reaction, *Biol. Rev.*, **1953**, 28, 416-435.
26. Withers, S.G.: Enzymatic cleavage of glycosides: How does it happen? *Pure & Appl. Chem.*, **1995**, 67, 1673-1682.
27. Ducros, V., Charnock, S.J., Derewenda, U., Derewenda, Z.S., Dauter, Z., Dupont, C., Shareck, F., morosoli, R., Kluepfel, D., Davies, G.J.: Substrate Specificity in Glycoside Hydrolase Family 10: Structural and Kinetic Analysis of the *Streptomyces lividans* Xylanase 10A, *J. Biol. Chem.*, **2000**, 275, 23020-23026.
28. Roberge, M., Shareck, F., Morosoli, R., Kluepfel, D., Dupont, C.: Characterization of active site aromatic residues in xylanase A from *Streptomyces lividans*, *Protein Engng.*, **1999**, 12, 251-257.
29. Owino, W.O., Ambuko, J.L., Mathooko, F.M.: Molecular basis of cell wall degradation during fruit ripening and senescence, *Stewart Postharvest Review*, **2005**, 3(3), 1-6.
30. Willats, W.G., McCartney, L., Knox, J.P.: Pectin cell biology and prospects for functional analysis, *Plant. Molec. Biol.*, **2001**, 47, 9-27.
31. Otto, H-H., Schirmeister, T: Cysteine Proteases and Their Inhibitors, *Chem. Rev.*, **1997**, 97, 133-171.
32. Hedstrom, L.: Serine protease mechanism and specificity, *Chem. Rev.*, **2002**, 102, 4501-4524.
33. Stanescu, M.D., Fogorasi, M.: Aplicatii ale enzimelor in finisarea materialelor textile, *Industria textila*, **2000**, 51, 184-188.
34. Akin, D., Dodd, R., Perkins, W., Henriksson, G., Erikson, K.-E.: Spray Enzymatic Retting: A New Method for processing Flax Fibres, *Textile Res. J.*, **2000**, 70, 486-494.

35. Ossala, M., Galante, Y.M.: Scouring of flax rove with the aid of enzymes, *Enz. Microb. Technol.*, **2004**, **34**, 177-186.
36. Stanescu, M.D., Fogorasi, M., Bucur, M.S., Pustianu, M., Dochia, M.: Enzymes in Cotton Bioscouring, *Proceedings of 13th Romanian International Conference Chemistry and Chemical Engineering*, September **2003**, volume **3**, pp.43-48.
37. Hoondal, G.S., Tiwari, R.P., Tewari, R., Dahiya, N.: Microbial alkaline pectinases and their industrial applications, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **2002**, **59**, 408-419.
38. Yachmenev, V.G., Bertoniere, N.R., Blanchard, E.J.: Effect of Sonication on Cotton Preparation with Alkaline Pectinase, *Textile Res. J.*, **2001**, **71**, 527-533..
39. Wadham, M.: Biopolishing of cellulosic fabrics, *JSDC*, **1994**, **110**, 367-368.
40. Luca, S.F., Bahner, M., Lieb, C., Knobloch, J.: Fortschritte in der enzymatischen Verendlung von Denim-Waren, *Melliand Textilberichte*, **1999**, **4**, 291-293.
41. Fogorasi, M., Puscas, E.L., Stanescu, M.D., Grigoriu, A.: Enzyme influence in cotton dyeing, *DWI Reports*, **2003**, **127**, 63-67.
42. Mieck, K.P., Nicolai, M., Nechwatal, A.: Zum Veredlungsverhalten von Lyocell Geweben, *Melliand Textilberichte*, **1997**, **5**, 336-338.
43. Gulrajani, M.L.: Degumming of silk, *Rev. Prog. Coloration*, **1992**, **22**, 79-84.
44. Buicur, M.S., Stanescu, M.D.: Enzymatic treatment of cotton: A model for wool carbonization, *Proceedings of 10th International Wool Textile Research Conference*, Nov.-Dec. **2000**, EN-P4, pp. 1-5.
45. Heine, E., Hocker, H.: Enzymes treatment for wool and cotton, *Rev. Prog. Coloration*, **1995**, **25**, 57-63; Cegara, J.: The state of art in textile biotechnology, *JSDC*, **1996**, **112**, 326-329.
46. Raileanu, M., Stanciu, L., Parlog, C., Bordeianu, D.L., Stanescu, M.D., Badea, M.: Entrapment of protease into silica gel matrix, *Rev. Roum. Chim.*, **2002**, **47**, 533-538; Raileanu, M., Stanciu, L., Badea, M., Stanescu, M.D., Bordeianu, D.L.: Sol-gel immobilized enzymes into silica matrices for the textile biotechnology, *U.P.B. Sci. Bull. Series B*, **2002**, **64**, 55-62.
47. Stanescu, M.D., Bucur, M.S., Pustianu, M., Mihuta, S., Raileanu, M.: Modyfying of wool dyeing properties with immobilized enzymes, *DWI Reports*, **2002**, **126**, 465-468; Stanescu, M.D., Mihuta, S., Bucur, M.S., Raileanu, M., Popovici, D.: Wool finishing with enzymes, *Proceedings of the 2nd International Conference of Textile Biotechnology*, 3-5 April **2001**, pp. 109-116
48. Stanescu, M.D., Mihuta, S.: Ecological solutions for polyester decortication, *Proceedings of the 2nd International Conference of Textile Biotechnology*, 3-5 April **2001**, pp. 159-166.
49. Fruhwirth, G., Paar, A., Gudelj, M., Cavaco-Paulo, A., Robra, K.H., Gubitz, G.: An immobilized catalase peroxidase from alkalothermophilic *Bacillus SF* for the treatment of textile-bleaching effluent, *Appl. Microbiol. Biotech.*, **2002**, **60**, 313-319.
50. Stanescu, M.D.: The State of Art of. Biotechnology in Textile Effluent Treatment, www.vtt.fi/bel/cost847/aurelthessaloniki.pdf
51. Stanescu, M.D., Mihuta, S., Bibe, M.: Management of Textile Waste Based on Cotton, *DWI Reports*, **2005**, **129**, 101-106.